

体外成熟卵子を用いた顕微授精による子ブタの作出

中井 美智子¹, 菊池 和弘², 滝澤 明子¹, 柏崎 直巳¹, 紫野 正雄¹

麻布大学・¹動物繁殖学研究室, ²生物資源研

【目 的】

ブタ体外成熟 (IVM) 卵子を用いた顕微授精 (ICSI) 技術の確立を目的とし, IVM-ICSI 胚の体外および体内における発生能力について調べた。

【方 法】

ブタ卵子は、屠場由来未成熟ブタ卵巢表面の直径3～5 mm 卵胞から採取した。IVM は NCSU37 メディウム中で 44 時間培養 (39℃, 5%CO₂, 5%O₂, 90% N₂) することにより行なった。培養後、第1極体放出卵子を選別し ICSI に用いた。ブタ精子は、凍結融解精巢上体精子を約 10 秒間超音波処理をすることで頭部と尾部を分離し、精子頭部のみを注入した。ICSI は、ピエゾマイクロマニピュレーターを用いて行なった。卵子の活性化を誘起させるため、ICSI 6時間後に電気刺激 (1.5 kv/cm, 20 μsecDC) を施した。そして、6 日間の体外培養 (38.5℃, 5%CO₂, 5%O₂, 90%N₂) 後、胚盤胞への発生率ならびにその細胞数を調べた。また、活性化処置後2時間以内に、発情を同期化した

レシピエントブタの卵管へ外科的に 50 ～ 15 個ずつ移植した。

【結 果】

IVM-ICSI 胚の体外培養における胚盤胞への発生率は 3.2%, 平均細胞数は 23.6 個であった。また、4 頭に移植したところ 2 頭の妊娠が確認された。そのうち 1 頭が妊娠を維持し、移植後 117 日目に帝王切開により 3 頭の外見上正常な子ブタ (♂ 1 頭 1.3 kg, ♀ 2 頭 1.4 ならびに 1.5 kg) が得られた。

【考 察】

以上の結果より、ブタ IVM-ICSI 胚はレシピエントへの移植により個体へ発生する能力を有することが明らかとなった。この IVM 卵子は、体内成熟卵子に比べ低労力・低コストで多量に作出できることから、IVM-ICSI の技術は、稀少遺伝資源の再構築や形質転換動物の作出への応用が期待される。